

II-100 鉄酸化バクテリアの第1鉄酸化作用におけるpHの影響

東北大学工学部 学生員 ○中村寛治
東北大学工学部 正会員 松本順一郎
東北大学工学部 正会員 野池達也

1.はじめに 鉄酸化バクテリアは硫酸鉄を含む鉱山地帯に生息する好気性細菌で、鉱山から排出される鉱山排水中の第1鉄と第2鉄に酸化して増殖エネルギーを得、カルビン回路により空気中のCO₂を固定している。大きさではおよそ0.5×1.0mmの桿菌で、最適pHは2.5~3.5、最適水温は25~35°Cの範囲にある。現在、鉄酸化バクテリアのこの第1鉄酸化作用を利用して鉱山排水中の第1鉄を第2鉄に酸化し、その後炭酸カルシウムにより中和処理する方法が岩手県の松尾鉱山跡で行なわれている。鉄酸化バクテリアに関する研究は従来から数多く発表されていて、回分実験によるものが多く、連続実験による研究はほとんどない。本研究では鉄酸化バクテリアが自然界に影響を受ける様子や環境因子のうち、pHを取り上げ、鉄酸化バクテリアの第1鉄酸化作用におけるpHの影響を回転円板装置を用いて連続実験により検討を行なった。

2.実験装置および方法 回転円板装置は図-1に示す通りである。鉄酸化バクテリアは岩手県の松尾鉱山跡を流れれる赤川（北上川2次支川）より採取したもので、9K培地により水槽20°Cで通気培養して得たものを使用した。まず酸化反応槽内に9K培地中の第1鉄を酸化し終わった鉄酸化バクテリアの菌液を入ることなく9K培地を加えて回分状態で約1週間保育した。こうしてある程度、鉄酸化バクテリアは円板表面に付着させた後、表-1に示す基質を連続的に供給した。回転円板は2系列運転し、1系列は流入pH 2.5から開始し定常値が得られた後2.3に下げ、その後2.0→1.8→1.6→1.3→1.0とpHを徐々に低下させた。そして他の1系列は流入pH 3.0より開始し3.5→4.2と徐々にpHを上昇させた。水温は20°C、滞留時間は60分に設定した。分析項目は第1鉄、全鉄、pH、細菌数等。第1鉄はJIS K0102 KMnO₄法、全鉄は原子吸光光度計、pHはpHメーター、細菌数は位相差顕微鏡600倍下でThomaの血球計算盤を用いて測定した。

3.実験結果および考察

3-1.経日変化について 基質のpHが2.0以上の条件下で円板表面の鉄の付着物は安定していたが、pHが1.8に低下すると鉄の付着物が徐々に溶出しはじめて全Feが流入全Feより60%以上程度高い値を示した。鉄の溶出した後に薄い粘質状の膜が残った。この時鉄の溶出により酸化率に影響を受け、78%を維持した。このことから鉄酸化バクテリア（鉄の付着物ではなく粘質状の膜中に大部分が存在していること）が消失できる。すなわちpHを1.6に低下させると鉄の付着物はさらに溶出し、5日目でほぼ完全に溶出してしまった。その際、粘質状の膜もある程度円板表面から脱落したため酸化率は1時低下してから徐々に回復し定常時に181%にまで達した。⁽¹⁾⁽²⁾ Mc Goranらは鉄酸化バクテリアの付着物に対する強い吸着性を主張しているが、今回の実験では鉄の付着物の存在の有無が酸化率に与える影響は全くみられない。この後pHを1.3、1.0と低下させていたが、pH 1.3での酸化率が78%，pH 1.0では74%となり、pH

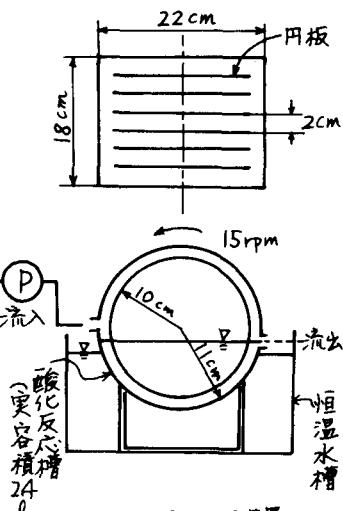


図-1 回転円板装置

表-1 基質組成(1L中)

成 分	量
FeSO ₄ ·7H ₂ O	2.5 g (Fe ²⁺ =500 mg/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	150 mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	25 mg
K ₂ HPO ₄	25 mg
KCl	5 mg
Ca(NO ₃) ₂	0.5 mg
10 NH ₄ SO ₄	適量
水道水	補給

1.6とくらべてわずかに低下しただけである。以上のことから鉄酸化バクテリアは鉄の付着物がつくことの不可能な低pHの条件下でも円板表面上に発達する薄い粘質状の膜中で増殖して、第1鉄酸化レベルで行なうことの可能であるということである。

3-2. 酸化率について 流入pHと酸化率の関係を図-2に示す。この図に示すとpHが2.5より低い範囲では酸化率はpH1.0を若干低下し75%と下回るまではほとんど80%近くの値を示している。またpHが2.5より高い範囲では酸化率はpH4.2まで他に比べてわずかに15%程度低い値を示しているにすぎない。以上のことから、pH1.0~3.5の範囲では酸化率はほとんどpHの影響を受けず高い酸化率を維持できることが明らかとなる。また若干pHの影響があらわれてpH4.2における酸化率は62%であるほど著しい酸化率の低下はみられない。

3-3. 活菌数および付着菌数について 流入pHと活菌数、流入pHと付着菌数の関係を図-3、図-4に示す。活菌数は $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6 \text{ cell/ml}^2$ pH2.0において最大値 $4.01 \times 10^6 \text{ cell/ml}^2$ を示し、付着菌数は $2 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8 \text{ cell/cm}^2$ pH2.3において最大値 $1.69 \times 10^8 \text{ cell/cm}^2$ を示す。最大値を示すT=pHは2.0と2.3で一致しているが両図とも詳細にはよく似ておらず、付着菌数と活菌数の間に密接な関係があることを表している。また図-5に流入pHと比酸化速度の関係を示す。比酸化速度は付着菌1cell当たりの日酸化量を表すもので、pH1.0~2.0の範囲ではおよそ $10^{-9} \text{ gFe}^{2+}/\text{cell}\cdot\text{日}$ 、pH2.3~2.5の範囲では $5 \times 10^{-10} \text{ gFe}^{2+}/\text{cell}\cdot\text{日}$ 、pH3.0~4.2の範囲ではおよそ $2 \times 10^{-10} \text{ gFe}^{2+}/\text{cell}\cdot\text{日}$ となる。

図-2に示すように酸化率はpH1.0~4.2の間で大きな低下を示さないむしろ一定の値を保つ。この実験では第1鉄の濃度が一定であるのに対し第1鉄の日酸化量が一定であることを意味している。図-5の比酸化速度は図-4の流入pHと付着菌数の凹凸を全く逆にした形状である。つまり付着菌数が多くなると酸化速度は小さくなる。本実験での鉄酸化バクテリアの最適pH域にあたるT=pH2.3で付着菌数が最大となり、比酸化速度も最も大きくなる。この最適pH域では第1鉄酸化で得られるエネルギーが速やかに増殖に用わるため付着菌数が多くなるが、pHが最適域からはずれるとエネルギーはエネルギーの不適なpHに対応するのに消費されると増殖にまわるエネルギーが最適pH域の時よりも多くなり、その結果として付着菌数が減少し、比酸化速度は大きい値として算出されるのが妥当である。

(参考文献) 1) McGoran et al : Can. J. Microbiol., Vol 15, p 135, (1969)

2) Olem & Unz : Biotechnol. Bioeng., Vol 19, p 1475, (1977)

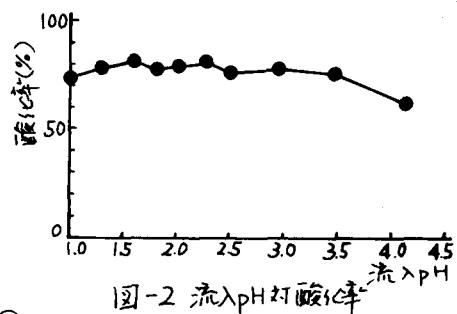


図-2 流入pH対酸化率

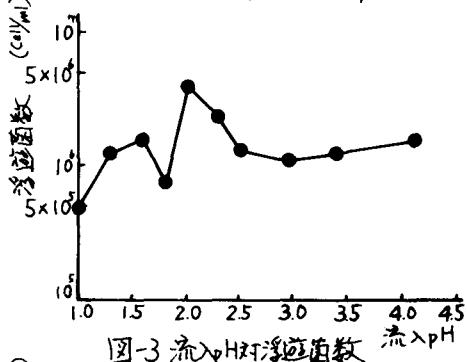


図-3 流入pH対活菌数

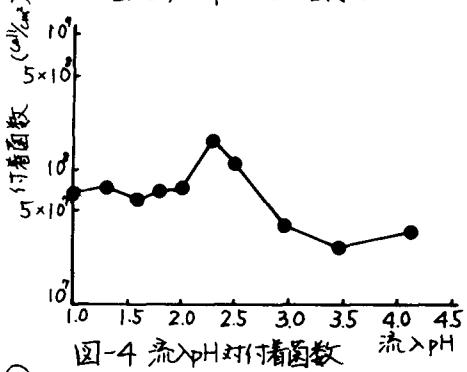


図-4 流入pH対付着菌数

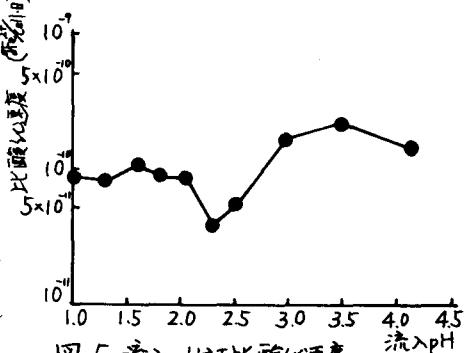


図-5 流入pH対比酸化速度